

COMPOUND SUBSTANCE OF BACTERIUM CELLULOSE

Patent number: JP3157402
Publication date: 1991-07-05
Inventor: TAKAI MITSUO; others: 06
Applicant: NAKANO VINEGAR CO LTD
Classification:
- **international:** C08B37/00; A23L1/0534
- **european:**
Application number: JP19890294808 19891115
Priority number(s):

Abstract of JP3157402

PURPOSE: To obtain the title compounded substance useful as a food ingredient, food modifier, polymer material, medical material, etc., having excellent functionality, comprising a bacterium cellulose (derivative) and polymer substance as main components.

CONSTITUTION: The objective compounded substance comprising a bacterium cellulose [e.g. one produced by bacterium (preferably Acetobacter pasteurianus ATCC 10245) or derivative thereof] and a polymer substance (e.g. chitin, chitosan or CMC) as main components.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Patent Abstracts of Japan



⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 平3-157402

⑫ Int.CI.⁵
 C 08 B 37/00

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成3年(1991)7月5日

P 7624-4C
 6779-4C A 61 L 15/01
 2121-4B A 23 L 1/195

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 微生物セルロース複合化物

⑯ 特願 平1-294808

⑯ 出願 平1(1989)11月15日

⑰ 発明者 高井 光男	北海道札幌市中央区南十七条西17丁目4番3号
⑰ 発明者 野々村 文就	北海道札幌市西区八軒八条東3丁目1番18号
⑰ 発明者 犬飼 純	北海道札幌市北区北二十三条西4丁目19番316号 ブラザハイツ24 820号
⑰ 発明者 西村 真理子	愛知県西尾市楠村町明神左右29番地の1
⑰ 発明者 深谷 正裕	愛知県知多郡東浦町森岡字濁池1番地の28
⑰ 発明者 奥村 一	愛知県半田市岩滑東町5丁目66番地の14
⑰ 発明者 川村 吉也	愛知県江南市古知野町古渡132
⑯ 出願人 株式会社中埜酢店	愛知県半田市中村町2丁目6番地
⑯ 代理人 弁理士 久保田 藤郎	

最終頁に続く

発明の範囲

1. 発明の名称

微生物セルロース複合化物

2. 特許請求の範囲

(1) 微生物セルロースまたはその誘導体および高分子物質を主成分とする微生物セルロース複合化物。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は微生物セルロース複合化物に関する、詳しくは微生物セルロースまたはその誘導体および高分子物質を主成分とし、すぐれた機能を有する微生物セルロース複合化物に関する。

(従来の技術および発明が解決しようとする課題)

微生物セルロースは、力学的に高強度の材料、食品素材、安定剤、低カロリー添加物などとして、用途開発が進められている(特開昭62-36467号公報、同62-294047号公報、同63-188365号公報、同64-16565号公報など)ほか医療用途の開発も進められている(特開昭63-152601号公報など)。また、

微生物セルロースの離解物は分散剤、保水剤、補強剤としての用途が期待されている(特開昭61-113601号公報、特開平1-156600号公報など)。しかしながら、微生物セルロースだけで上記の用途を十分に満足する機能をもたせることは困難であるため、微生物セルロースのゲル中に安定剤を含浸させる方法(特開昭63-188365号公報)や化学修飾することにより機能性を高める試みがなされている(特開昭63-152601号公報)。また、微生物セルロース膜の表面に機能性を付与する化合物をラミネートして非対称膜としたり、コーティングを行うなどより優れた性質を持つように工夫されている。

上記の微生物セルロース複合化物は、単に微生物セルロースのゲルに目的の化合物を含浸させるか、物理的あるいは化学的に修飾することにより得られる。しかしながら、含浸による複合化は含浸に時間を要したり、含浸させることが困難な化合物、例えば高分子物質等の複合化は制約される。また、物理的な複合化による複合化物は不安定で

あり、化学的な複合化は化学修飾の操作が繁雑である等の問題があった。

本発明の目的は、微生物セルロースと広範囲の高分子物質との安定した微生物セルロース複合化物を提供することである。

[課題を解決するための手段]

本発明者らは、微生物セルロースの構成糖の大部分はグルコースであるが、少量のマンノース、ガラクトース、アラビノースなども含まれていることや、セルロースを産生する菌株や培養条件などにより構成糖の組成が変化することに着目し、微生物セルロースがグルコースの β -1, 4-結合を主鎖とするものの、 β -1, 4結合以外の側鎖が存在すると推定して鋭意研究を重ねた。その結果、主鎖および側鎖に対する親和性を積極的に利用することにより、広範な高分子物質との複合化が可能であること、微生物セルロースと高分子物質との複合化において、微生物セルロース産生微生物を培養するにあたり、予め培地に複合化しようとする高分子物質を添加することにより、微

生物セルロースのミクロフィブリル形成中にミクロフィブリルと該高分子物質が相互作用を起こして容易に複合化が進行し、しかも複合化の度合を高くすることができることによりすぐれた物性を持った複合化物が得られることを見出した。

すなわち、本発明は微生物セルロースまたはその誘導体および高分子物質を主成分とする微生物セルロース複合化物を提供するものである。

本発明で使用される微生物セルロースは、セルロースを生産する微生物の生産するものであれば特に限定はない。微生物セルロース産生菌としては特に制限はなく、アセトバクター属、グルコノバクター属、シュードモナス属、アグロバクテリウム属などに属する微生物を挙げることができるが、アセトバクター属に属する微生物はセルロース産生能が高いので好ましい。具体的にはアセトバクター・パストリアヌス ATCC 10245などが挙げられる。

微生物セルロースを産生させる培地としては、通常の細菌を培養する一般的な培地を用いればよ

く、炭素源、窒素源、無機塩類、その他必要に応じてアミノ酸、ビタミン、その他の栄養源を含むものである。アセトバクター属に属する微生物を用いる場合には、Bestrin-Schramm 培地が特に好適に用いられる。また、培地にオートクレーブなどで熱失活したセルラーゼ製剤を添加することにより、微生物セルラーゼの生産性を高めることができる。

培養条件も通常の条件で良く、pHは微生物セルロース産生菌が生育し、微生物セルロースを産生する条件で良く、通常5ないし9である。また、培養温度は20~40℃の範囲である。

培養方法については、通常攪拌培養でも静置培養でもよいが、アセトバクター属に属する微生物を用いる場合には、生産性が高いことから、静置培養で培養液表面に産生させる方法が好ましい。

産生された微生物セルロースは、必要に応じて除蛋白処理をした後、通常は水洗して使用する。また、必要に応じて水洗後、微生物セルロースが分解しない方法、たとえば風乾などの一般的な方

法で乾燥させてもよい。

このようにして調整した微生物セルロースは、常法による酢化処理や硝化処理などの化学修飾を行ない、滤過特性を変えてセルロース誘導体として使用することも可能である。

本発明で用いる高分子物質としては、微生物セルロースと何らかの相互作用をするものであれば特に制限はない。具体的にはキチン、カルボキシメチルキチン、硫酸化キチン、キチングリシンエステル、キトサン、硫酸化キトサン、硝化キトサン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、メチルプロピルセルロース、アルギン酸、カラギーナン、ローカストビーンガム、グアガム、キサンタンガム、デンプン、アミロース、アミロベクチン、キシラン、ベクチン、マンナン、レバン、コラーゲン、デキストラン、デキストラン硫酸、ヘミセルロース、タマリンド種子粘質物、ゴマペースト、ゼラチン、アルブミン、グルテン、酢酸多糖AM1(特開昭59-156253号

公報)、酢酸菌多糖AM-2(特開昭60-10540号公報)、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコールなどを挙げることができ、これらの高分子物質のうち1種もしくは2種以上を用いる。

また、高分子物質の一つであるキチンについても制限がなく、例えばカニやエビの殻から調製されたもの、イカ背骨やオキアミなどから調製されたものなどを挙げることができる。また、キチンの調製法としてはカニやエビ殻などを希塩酸処理、熱希アルカリ処理を行う通常の方法のほか、プロテアーゼ処理を行って除タンパクし精製する方法も適用でき、特に制限はない。また、キトサン、カルボキシメチル化キチン、硫酸化キチン、グリシン化キチン、硫酸化キトサン、硝化キトサンなどのキチン誘導体は、例えば「最後のバイオマスーキチン、キトサン」(技報堂出版、1988年、p29)に記載の公知の方法などで容易に調製できる。なお、本発明では上記キチンを常法により脱アセチル化して得られるキトサンのほか、アブシディア(Absidia)属、ムコール(Mucor)属、リゾpus(Rhizopus)属の糸状菌の菌体から得られるキトサ

ンも使用することができる。

なお、上記した微生物セルロースおよびその誘導体、高分子物質は、なるべく純度の高いものを用いることが望ましいが、用途に応じてある程度不純物を含むものであっても差しつかえない。

本発明の微生物セルロースまたはその誘導体および高分子物質を主成分とする微生物セルロース複合化物を調製する方法としては、以下の2つの方法が挙げられる。第1の方法は、微生物セルロースを産生するにあたり、微生物セルロース産生菌を培養する培地中に高分子物質を添加して培養を行い、微生物セルロースと高分子物質とが複合化した微生物セルロース複合化物とする方法である。培地に添加する高分子物質は前記した高分子物質のうち、微生物セルロース産生菌の生育を著しく妨げないものであれば種類および添加濃度に特に制限はないが、通常は添加濃度は0.05~2.0%が好適である。培養条件や培養方法も特に制限はなく、前記と同様に行なえばよい。産生された高分子物質が複合化した微生物セルロース複

合化物は、必要に応じて除蛋白処理をした後、通常は水洗して使用する。また、必要に応じて水洗後、微生物セルロースが分解しない方法、たとえば風乾などの一般的な方法で乾燥させたのち、成型してもよい。

第2の方法は、離解した微生物セルロースと高分子化合物を混合することにより複合化して、微生物セルロース複合化物とする方法である。まず、前記した方法で産生された微生物セルロースをミキサー等の機械剪断力により裁断したり、バルブ離解機で離解した後、高圧ホモゲナイザーで均一化処理してミクロフィブリル化する。得られた懸濁物を遠心分離してペースト状の離解物を得る。このペースト状の離解物に複合化しようとする高分子物質を通常の方法、例えばミキサーやホモゲナイザーなどでよく混合する。この時、高分子物質は固形状のまま混合してもよいが、微生物セルロースとの混合時間が短くてすむことや、混合液中で速やかに均一濃度となることから、溶液または懸濁液として使用することが望ましい。混合時

間は5~60分間程度でよく、通常は加熱などの必要はない。微生物セルロースと高分子物質の混合時における濃度および混合比率は、両者の混合が可能な範囲であれば特に制限はないが、通常は高分子物質の濃度が0.05~2.0%、両者の混合比率は微生物セルロース:高分子物質が1:1.0~1.0:1の範囲が望ましい。

また、上記の方法により得られる微生物セルロース複合化物は、凍結乾燥して固形化すること也可能である。凍結乾燥する場合には、得られた複合化物を離解した後に凍結し、凍結状態のまま減圧し乾燥する。凍結乾燥の方法は通常の方法でよいが、水などを吸収させた場合の復元性をよくするためには、できるだけ短時間で凍結させ、乾燥中は温度上昇により凍結が融解しないようにする必要がある。この様にして得られる固形化した複合化物は吸水により復元した場合、微生物セルロースのすぐれた特徴である分散性や水分保持力等を損なうことがない。

また、上記の方法により得られる微生物セルロース複合化物は、そのまま自然乾燥するか熱風乾燥することにより、フィルム状とすることもできる。さらに、微生物セルロース複合化物の融液を細孔から適当な凝固浴中に押し出して冷却、固化するか、溶媒を用いて微生物セルロース複合化物を含む溶液を調製し、細孔から押し出したのち、溶媒を除き固化すること等により、繊維状とすることができる。また、細孔の形を変えることにより、繊維の断面を円形や三角形などの形で成型することもでき、さらに、中空糸状とすることもできる。

本発明の微生物セルロース複合化物は、食品分野においては分散剤、懸濁安定剤、増粘剤、離水防止剤、水分保持剤などの用途を有し、繊維状物やフィルム状物は、高吸水性の繊維、機能性フィルム剤、分離膜素材、手術用糸、創傷保護剤などの用途へ利用できる。

0.3% (w/v) を調製した。次いで、この懸濁液を遠心分離 (6,000 rpm, 15 分) にかけ、ペースト状物を得た。このペースト状物（微生物セルロース濃度約 1.5% (w/v)）を微生物セルロース濃度として 0.3% (w/v) 採取したものに、最終濃度が 0.3% (w/v) となるようにカラギーナン、アルギン酸ソーダ、キサンタムガムまたはカルボキシメチルセルロース（ナトリウム塩）の高分子物質溶液を加え、ミキサーにて室温で 60 分間攪拌混合し、複合化した。微生物セルロースと混合する前の各溶液の粘度と混合後の粘度 (cp) を第 1 表に示す。なお、粘度は 20°C にて測定した。

第 1 表

微生物 セルロース	キサンタ ムガム	アルギン 酸ナトリウム	カルボキシメチ ルセルロース	カラギーナ ン
混合前の粘度 (0.3% 溶液)	143	244	14	11
混合後の粘度	—	587	500	403

第 1 表から明らかなように、離解した微生物セルロースと高分子物質を混合することにより複合

〔実施例〕

以下に実施例を示し、本発明を詳しく説明する。

調製例（微生物セルロースの調製）

アセトバクター・バスツリアヌス ATCC 10245 を Restrin-Schramm 培地 (D-グルコース 2.0 g, バクトベブトン (ディフコ社製) 0.5 g, 酢母エキス (ディフコ社製) 0.5 g, クエン酸 0.115 g, リン酸水素二ナトリウム 0.27 g, 蒸留水 100 ml, pH 6.0) に植菌し、28°C で 96 時間静置培養した。培養終了後、培養液表面に產生されたバクテリアセルロースを主成分とする膜を取り出し、1% NaOH 水溶液により室温で 24 時間除蛋白処理を行なった後、水洗して微生物セルロースを得た。

実施例 1

調製例で得られた微生物セルロースをフード・カッターで裁断した後、高压ホモゲナイザー (APV ゴウリン試験用ホモゲナイザー、サブミクロンディスパーサー 15MR) で 30 回パスさせてミクロフィズリル化した微生物セルロースの懸濁液 (濃度

化され、混合前の微生物セルロースの粘度と各溶液の粘度の和よりも著しく粘度が向上した。

実施例 2

実施例 1 で調製したペースト状の微生物セルロースを、水 7 ml および食用油 3 ml からなる 10 ml の水-油混合液に 0.1% (w/v) 加えた。この混合液を試験管に入れ、ここにキサンタンガムを各種濃度添加し、ポルテックス・ミキサーにて 3 分間混合攪拌した後、30 分間静置して水と油の混合状態を調べた。対照としてペースト状の微生物セルロースの代わりに、アビセル FD101 (植物セルロース起源、旭化成株式会社社製) を用いたこと以外は同様の操作を行なったものを用いた。結果を第 2 表に示す。なお、表中の○は静置しても水と油が懸濁状態のまま維持されることを示し、×は静置後、水と油にすみやかに分離することを示す。

第2表

	キサンタンガム添加濃度(%w/v)				
	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
実施例1で得られた複合化物使用	×	×	×	○	○
アビセル使用	×	×	×	×	×

第2表から明らかなように、キサンタンガムを少量添加することにより水と油を安定な懸濁状態に保つことができた。なお、キサンタンガムと離解した微生物セルロースを混合してもキサンタンガムの添加濃度が低いため、実施例1のような粘度の向上は見られなかった。また、キサンタンガム単独で離解した微生物セルロースを懸濁状態とするには1%の添加が必要であった。

実施例3

アセトバクター・バスツリアヌス ATCC10245を、調製例で用いたBestrin-Schramm 培地100ml(300ml容三角フラスコ使用)に植菌し、30℃で6日間静置培養した。一方、Bestrin-Schramm

培地100mlにカルボキシメチルセルロース(ナトリウム塩)、カルボキシメチルキチン(置換度0.6)、カルボキシメチルキチン(置換度1.0)またはキサンタンガムをそれぞれ0.5%添加した培地を用いたこと以外は同様の方法でアセトバクター・バスツリアヌス ATCC10245を培養した。培養終了後、培養液表面に產生した微生物セルロースまたは高分子物質が複合化した微生物セルロースを取り出し、調製例と同様の方法で除蛋白処理、中和処理を行い水洗した。水洗後、滤紙上に置いて付着する水分を十分吸い取り重量を測定した。次いで、-40℃で各微生物セルロースを凍結したのち、融解しないようにして一晩液圧して凍結乾燥処理を行い、得られた固体物の重量を測定した。測定後、100mlの水に懸濁し、室温で2時間吸水させた。吸水後、滤紙上にのせて付着する水分を取り除き、重量を測定した。この結果を第3表に示す。

第3表

培地への添加物	凍結乾燥前重量(g)(A)	凍結乾燥後重量(g)	吸水後重量(g)(C)	復元率(C/A)
カラギーナンセルロース	8.30	0.20	7.64	0.92
キサンタンガム	17.70	0.13	7.10	0.40
カラギーナンセルロース(置換度0.6)	8.88	0.21	8.59	0.97
カラギーナンセルロース(置換度1.0)	7.81	0.18	3.84	0.49
なし(対照)	11.90	0.15	3.84	0.32

第3表から明らかなように、微生物セルロースだけでは凍結乾燥前の32%のレベルまでしか復元できないのに対し、高分子物質を複合化した微生物セルロースではいずれも復元率が高かった。

実施例4

実施例1と同様の方法で調製した離解した微生物セルロースのペースト状物(微生物セルロース濃度2%(w/v))を0.1g(乾燥重量として)とり、カラギーナン、キサンタンガムまたはグアガ

ムをそれぞれ0.1g添加し、ミキサーで60分間混合し複合化した。得られた高分子物質を複合化した微生物セルロースを、実施例3と同様の方法で凍結乾燥し、固体物を得た。得られた固体物に対し、水30mlを加え室温で2時間吸水させた後、滤紙で付着している水分を取り除き、重量を測定した。対照として、離解した微生物セルロースのみ(乾燥重量0.2g)で同様の操作を行ったものを用いた。この結果を第4表に示す。

第4表

培地への添加物	吸水後の重量(g)
カラギーナン	6.81
キサンタンガム	11.84
グアガム	1.71
なし(対照)	1.64

第4表より明らかなように、微生物セルロースはいずれも対照より重量が重く、吸水性を保ったまま固体化されていた。

実施例 5

実施例 1 で調製したキサンタンガムと微生物セルロースの複合化物を、第 5 表に組成を示したごま風味のたれに添加した。

第 5 表

液糖	113 g
グルタミン酸ソーダ	9 g
ゴマペースト	35 g
ゴマ油	7 g
みりん	100 ml
しょう油	400 ml
水	340 ml
微生物セルロース複合化物	52.6 g (湿重)

90℃に品温を上昇させた後、冷却し、室温に放置した。対照として、微生物セルロース複合化物を加えないもの、および微生物セルロースのみをえたものを作成した。対照ではいずれも1週間後にゴマペーストが上層に浮き上がり固液分離が見られたが、微生物セルロース複合化物を添加した場合には、全く分離は認められなかった。

保持されていた。また、官能評価でも対照と比較し、食感では有意差が認められず、嗜好では好みられた。

実施例 7

実施例 1 と同様の方法で調製したペースト状の微生物セルロースとカルボキシメチルセルロースの複合化物 0.3% を、ヒドロキシプロピルセルロースを 2% 含む水溶液に溶かし、ドープを調製した。このドープを注射器にとり、80℃～90℃に保溫した飽和食塩水 (21%) 中に注射器先端から押し出したところ、繊維状の複合化物が得られた。一方、ヒドロキシプロピルセルロースの代わりに、ヒドロキシエチルセルロースやメチルセルロースを用いても繊維状の複合化物が得られた。また、飽和食塩水の代わりに硫酸ナトリウム (17%～30%) または硫酸亜鉛 (1%～2%) を含む溶液を用いても、同様の結果が得られた。

実施例 8

実施例 3 で調製したカルボキシメチルキチンと複合化した微生物セルロース膜をガラス板上にの

また、訓練された官能評価員による官能評価をおこなったところ、対照と比較して微生物セルロース複合化物を添加しても味、香り、舌ざわりの点で有意差はなかった。

実施例 6

牛乳 150 cc にパン粉カップ 2 / 3 を加え混ぜたものに、ひき肉 400 g、きざみ玉ねぎ 100 g、卵 1 個、塩とこしょうを少々加え、よく混合しハンバーグを作成した。このうち 100 g とり、実施例 4 と同様の方法で調製したキサンタンガムと微生物セルロースの複合化物凍結乾燥物を 0.2 g 加え、よく混合した。これを 2 等分しラップで包み、-30℃で一晩凍結保存した。保存後、室温で解凍し、ドリップの量を同じく -30℃ で一晩凍結保存したキサンタンガムと微生物セルロースの複合化物を加えないハンバーグ (対照) と比較した。また、フライパンで焼いたものを、よく訓練された官能審査員によって官能評価を行った。解凍時に出るドリップの量は対照と比べ、わずかに肉汁が出る程度で離水が防止され、肉汁がよく

せ自然乾燥させたところ、フィルム状物が得られた。

また、実施例 1 と同様の方法で調製したペースト状の微生物セルロースとカルボキシメチルキチンを 1 : 1 の割合でよく混合して調製した複合化物を同じくガラス板上に均一に塗布して自然乾燥したところ、フィルム状物が得られた。

〔発明の効果〕

本発明の微生物セルロース複合化物は、広範な高分子化合物を複合化しているので、すぐれた機能性を有するものであり、食品素材、食品改良剤、高分子材料、医療材料などとして有用である。

特許出願人 株式会社 中埜商店

代理人 弁理士 久保田 藤郎



第1頁の続き

⑤Int.Cl.	識別記号	庁内整理番号
A 23 L 1/0534		
// A 61 K 31/715	ADA	7431-4C
A 61 L 15/16		
	17/00	6971-4C
C 12 P 19/04		
(C 12 P 19/04	C	8214-4B
C 12 R 1:02)		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)